异色瓢虫成虫体型及体内脂肪含量对其耐寒能力的影响

赵　静[1]，崔宁宁[1]，张　帆[2]，印象初[1]，许永玉[1,*]
（1. 山东农业大学植物保护学院，山东泰安 271018；2. 北京市农林科学院植物保护环境保护研究所，北京 100089）

摘要：为明确异色瓢虫 *Harmonia axyridis* (Pallas)成虫体型及体内脂肪含量对其耐寒能力的影响，本研究在 2 种发育温度(18℃和 25℃)下通过表型可塑性诱导获得了不同体型的异色瓢虫成虫，测定了成虫体型大小、体内脂肪含量、过冷却点(supercooling point, SCP)及其在恒定低温(constant low temperature, CLT)和变温(fluctuating thermal regime, FTR)下的存活率。结果表明：较低发育温度(18℃)下的成虫体型比 25℃下的明显大($P<0.01$)，体内脂肪含量显著高于 25℃下的($P<0.01$)；且两 2 种发育温度下成虫体内脂肪含量与虫体干重呈较好的正相关关系。由 SCP 频次分布图可知，饲养在 18℃下的成虫 SCP 主要集中在 -8 ~ -6℃范围内，饲养在 25℃下的成虫 SCP 主要集中在 -10 ~ -9℃范围内；且成虫体型大小与过冷却能力呈现负相关关系。经过相同时间低温暴露后成虫的存活率按下列顺序降低：FTR18℃ > FTR25℃ > CLT18℃ > CLT25℃。结果表明低温暴露过程中脂肪贮存对异色瓢虫成虫存活是非常重要的，但是冷伤害是影响存活的基本因素。

关键词：异色瓢虫；冷伤害；过冷却点；体型；脂肪含量；变温
中图分类号：Q965　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2010)11-1213-07

Effects of body size and fat content on cold tolerance in adults of *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae)

ZHAO Jing[1], CUI Ning-Ning[1], ZHANG Fan[2], YIN Xiang-Chu[1], XU Yong-Yu[1,*] (1. College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; 2. Institute of Plant and Environment Protection, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Science, Beijing 100097, China)

Abstract: In order to clarify the effects of body size and fat content on cold tolerance in adults of *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae), two developmental temperatures (18℃ and 25℃) were used to induce a phenotypic variation in insect size and the relationships were analyzed among the adult size, fat reserves, the supercooling point (SCP) and the survival rate exposed to constant low temperatures (CLTs) or fluctuating thermal regimes (FTRs) in the laboratory condition. The results showed that the adults grown at the lower temperature (18℃) were significantly larger than those reared at 25℃ ($P<0.01$). The adult fat content was positively related to dry mass of body, indicating that larger individuals contained a higher proportion of fat. The SCP frequency distribution showed that the lower SCPs (-10℃ - -9℃) were found in adults bred at the higher temperature (25℃), whereas the higher SCPs (-8℃ - -6℃) in adults bred at the lower temperature (18℃). The negative linear relation was observed between SCP and adult body size. The survival rate, especially under CLT, decreased significantly with duration of cold-exposure. The type of exposure (FTR *versus* CLT) had a dramatic impact on the survival rate, which was distinctively higher under FTR than under CLT as in the following order: FTR18℃ > FTR25℃ > CLT18℃ > CLT25℃. The results indicate that energy storage is an important factor, but the vulnerability to chill-injury is supposed to be the primary factor regulating survival at low temperature.

Key words: *Harmonia axyridis*; chill-injury; supercooling point; body size; fat reserves; fluctuating thermal regimes

---

基金项目：国家重点基础研究发展规划（"973"计划）项目(2006CB102005)；山东省利用全球环境基金赠款科研项目(TF090802)；国家科技支撑计划(2008BADA5B02)
作者简介：赵静，女，1984 年，山东肥城人，博士研究生，研究方向为昆虫生理生态，E-mail：20020806@163.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail：xuyy@sdau.edu.cn
收稿日期 Received：2010-06-07；接受日期 Accepted：2010-09-15

由于气候的季节性变化，温带地区的昆虫每年都遭受着长期或短期对生命活动不同程度的低温伤害。因此昆虫增强耐寒能力的适应机制被广泛研究(Sinclair *et al.*, 2003)。在许多种类的昆虫中，冷伤害累积有时会发生在 0℃以上，但是致死的主要原因仍然不是很清楚(Renault *et al.*, 2002; Koštál *et al.*, 2006)。有些研究认为是持续低温暴露的结果，但是当饥饿和低温这两种因素同时存在时导致死亡的原因就更难以确定，可能是由于冷伤害或者饥饿，也可能是二者共同作用的结果，低温暴露期间昆虫新陈代谢所需能量基本上来自体内贮存的脂肪(Renault *et al.*, 2002, 2003)。果蝇 *Drosophila* 体内脂肪含量增加其耐饥力增强(Hoffmann and Harshman, 1999)，而且耐饥力随着体重的增加而增强(Chippindale *et al.*, 1996; Harshman *et al.*, 1999)。耐饥力假说(starvation resistance hypothesis, SRH)表明：相对于新陈代谢速率，体型大小对能量贮存的影响更大，昆虫耐饥力随着体型的增加而增强(Arnett and Gotelli, 2003)。那么如何获得体型大、脂肪含量高的昆虫个体呢？根据温度-体型法则(temperature-size rule)，适度的改变发育温度是一个比较可行的方法(Angilletta and Dunham, 2003; Colinet *et al.*, 2007a)。

在昆虫耐寒性研究中，过冷却点(supercooling point, SCP)和低温存活能力(survival capacity at low temperatures)常作为衡量其耐寒性强弱的重要指标(Renault *et al.*, 2002)，而且对昆虫存活能力的研究大多是在室内恒定低温下进行的(Lalouette *et al.*, 2007)。大量研究表明：昆虫暴露在变温(fluctuating thermal regime, FTR：低温暴露时进行高温间断)下比一直暴露在恒定低温(constant low temperature, CLT)下能提高存活率(Renault *et al.*, 2004; Lalouette *et al.*, 2007)，这可能是高温间断对冷伤害有一定的修复作用，这样就减少了冷伤害积累，或者冷伤害效应在高温下被抵消(Renault *et al.*, 2004; Colinet *et al.*, 2006)。这一结论对于昆虫的长期贮存及一些生物制剂的定期释放有着非常重要的意义(Nedvěd *et al.*, 1998)。

异色瓢虫 *Harmonia axyridis* (Pallas)属鞘翅目(Coleoptera)瓢虫科(Coccinellidae)，对蚜虫、叶螨和介壳虫等重要害虫具有很强的捕食能力，是一种重要的生防天敌(Koch, 2003; 王甦等, 2007)。关于异色瓢虫的应用已经基本产业化，但是工厂化大规模生产需解决的一个问题就是在释放前如何贮存该天敌。目前对成虫一般采用恒定低温贮存的方法，但是除越冬代以外，一般贮存时间不能过长，否则存活率受到较大影响，而且恢复捕食活性需要一定时间(王小艺和沈佐锐, 2002)。恒定低温暴露时进行高温间断能否提高异色瓢虫成虫的存活率？本实验通过测定恒定低温及变温处理后成虫的存活率，以探寻更为理想的低温贮存方式，对充分发挥该天敌在害虫生物防治中的作用具有重要实践意义。此外，低温贮存时瓢虫成虫处于冷昏迷状态不能取食，期间新陈代谢需要的能量主要来自于体内脂肪。耐饥力假说表明体型大的成虫体内脂肪含量高，这是否意味着对低温存活有利？本研究根据温度-体型法则，由表型可塑性诱导在两种发育温度下获得了不同体型大小的异色瓢虫成虫。通过测定成虫体长、体宽、体内脂肪含量及 SCP，研究异色瓢虫成虫体型及体内脂肪含量对其耐寒能力的影响，以期阐明低温暴露对成虫的影响。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

异色瓢虫 *H. axyridis* 于 2009 年 5 月采集自山东省泰安市郊区桃园内(36°15′N, 116°59′E)，采回后挑选健康成虫释放到人工气候室的养虫笼(35 cm × 40 cm × 50 cm)内集中饲养，饲喂豆蚜 *Aphis craccivora* (Koch)，其寄主为蚕豆 *Vicia faba* L. 苗。待雌虫产卵后，将适量新鲜卵块转移至另一养虫笼内，孵化后幼虫继续饲喂蚕豆蚜虫至成虫羽化。饲养期间为降低幼虫自残行为的发生，每 2 d 更换一次蚕豆苗以提供充足的蚜虫。人工气候室饲养环境条件温度为 18 ± 1℃和 25 ± 1℃, RH 65% ± 5%, 光周期 L∶D = 16∶8。室内瓢虫种群均饲养 2 代以上。由于性别与年龄均能影响到成虫的耐寒性，所以随机选取羽化 7 d 左右的成虫(♀∶♂ = 1∶1)进行试验。

1.2 异色瓢虫成虫体型及脂肪含量测定

分别挑选 2 种发育温度 (18 和 25℃)下的健康成虫(n = 48)在解剖镜(单位：mm)下测量其最大体长(maximum length, L)及体宽(maximum width, W)。异色瓢虫成虫体型均为椭圆形，如果把每头成虫体型视为一个规则的椭圆形，则其体积(volume, V)的计算公式 $V = \pi \cdot L \cdot W^2/6$ (Atkinson, 1979)。

参照 Colinet 等(2007b)方法：将成虫置于 60℃恒温培养箱中干燥 48 h 后称量虫体干重(dry mass,

DM)。取干燥后的单头成虫于玻璃匀浆器中加入 3 mL氯仿和甲醇提取液(氯仿:甲醇 = 2:1)研磨匀浆，转移至 5 mL 离心管中 4 500 r/10 min 离心。转移上清，沉淀中再加入 3 mL 氯仿和甲醇提取液，再次离心。转移上清后剩余沉淀在 60℃ 恒温培养箱中干燥 24 h 至恒重(lean dry mass，LDM)。则脂肪含量(fat content，FC) = (DM - LDM)/DM × 100%。

1.3　异色瓢虫成虫过冷却点测定

采用赵静等(2008)测定方法随机选取 2 种发育温度下的健康成虫(♀:♂ = 1:1) 48 头进行实验。

1.4　异色瓢虫成虫恒定低温及变温处理

挑选 2 种发育温度下的健康成虫(♀:♂ = 1:1)移入塑料培养皿中(D = 9 cm)，皿口覆盖以封口膜并用解剖针扎取通气孔若干。为排除冷激(cold-shock)对成虫低温存活的影响，首先将成虫在 10℃ 下暴露 24 h，然后再进行以下恒定低温 CTL 及变温 FTR 处理(图 1)：

25C：饲养在 25℃ 下的成虫在 5℃ 恒温下持续暴露 4 周；

25F：饲养在 25℃ 下的成虫在 5℃ 下进行暴露时每天在 25℃ 下间断 2 h (5℃22 h/25℃ 2 h)，持续暴露 4 周；

18C：饲养在 18℃ 下的成虫在 5℃ 恒温下持续暴露 4 周；

18F：饲养在 18℃ 下的成虫在 5℃ 下进行暴露时每天在 25℃ 下间断 2 h (5℃22 h/25℃ 2 h)，持续暴露 4 周。

低温暴露过程中成虫处于冷昏迷状态不能取食所以一直处于饥饿状态。低温处理后将成虫分别转移至饲养条件下恢复 24 h，以能行走协调的作为存活标准检查试虫存活数，每周检查 1 次。每处理重复 3 次，每次重复 30 头成虫。

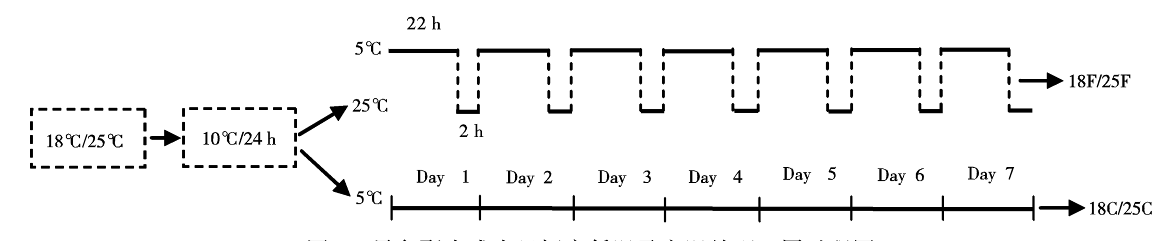


图 1　异色瓢虫成虫经恒定低温及变温处理 1 周过程图

Fig. 1　Protocols used to determine the impact of cold exposure to constant low temperature (CTL) and fluctuating thermal regime (FTR) for one week in *Harmonia axyridis* adults

图中为饲养在 18℃/25℃ 下的成虫低温暴露 1 周的过程，以后 3 周处理相同。The figure shows that adults of *Harmonia axyridis* reared at 18℃ and 25℃ were exposed to two different types of cold-exposure (CTL and FTR) for one week, and the same for the following three weeks.

1.5　数据处理和统计分析

利用统计软件 SPSS 16.0 for Windows 对各实验内容所得数据进行统计分析，获得平均值及标准误。对不同处理间的差异进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)和 Duncan 氏多重比较($P < 0.05$)。

2　结果与分析

2.1　异色瓢虫成虫体型大小与体内脂肪含量

异色瓢虫成虫体型大小及其体内脂肪含量与发育温度密切相关。饲养在 18℃ 下成虫体型明显比饲养在 25℃ 下的要大。由表 1 可以看出 2 种发育温度下成虫体长、体宽及体积均存在极显著差异($F = 33.904$, $df = 1$, $P < 0.01$; $F = 30.717$, $df = 1$, $P < 0.01$; $F = 39.174$, $df = 1$, $P < 0.01$)。将饲养在 18℃ (图 2：A)和 25℃ (图 2：B)下成虫体内脂肪含量与虫体干重进行线性相关分析表明，体内脂肪含量和虫体干重呈现出较好的正相关，体型大的成虫其体内脂肪含量也高；而且饲养在 18℃ 下成虫脂肪含量显著高于 25℃ 下的($F = 232.55$, $df = 1$, $P < 0.01$)。

表 1　2 种发育温度 (18℃和 25℃) 下异色瓢虫成虫体长、体宽及体积测定

Table 1　Body length, width and volume of adults in *Harmonia axyridis* reared at 18℃ and 25℃

发育温度(℃) Developmental temperature	体长 (mm) Body length	体宽 (mm) Body width	体积 (mm^3) Body volume
18	6.81 ± 0.09 A	5.64 ± 0.07 A	113.54 ± 3.82 A
25	6.09 ± 0.08 B	5.17 ± 0.05 B	85.76 ± 2.58 B

表中各数据均为平均值 ± 标准误；同一测定参数后标记不同大写字母表示其在 0.01 水平下 One-way ANOVA，Duncan 氏多重比较差异显著。The data in the table are mean ± *SE*. The different letters in the same measuring parameter mean significant difference at the 0.01 level detected by One-Way ANOVA/Duncan's multiple range test.

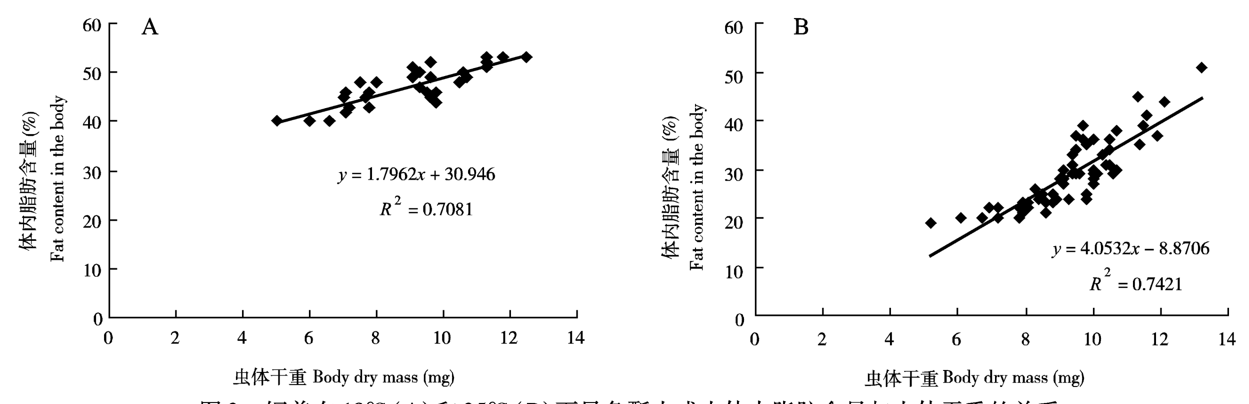
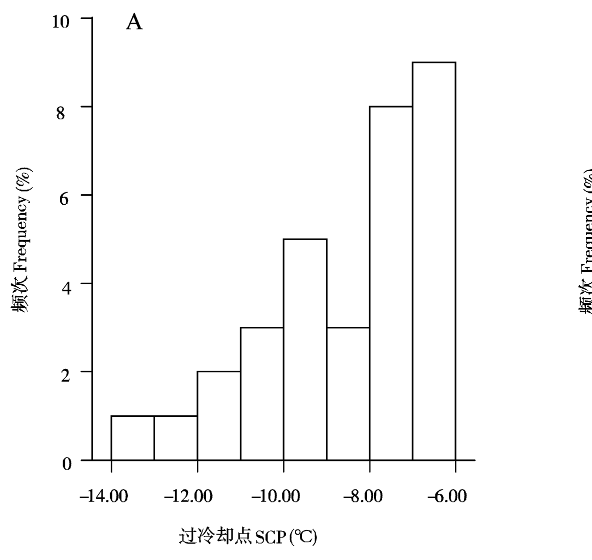


图 2　饲养在 18℃(A)和 25℃(B)下异色瓢虫成虫体内脂肪含量与虫体干重的关系

Fig. 2　Relationship between fat content in the body and dry mass of body in *Harmonia axyridis* adults from both rearing temperature 18℃ (A) and 25℃ (B)

2.2　异色瓢虫成虫体型大小与过冷却能力

由图 3 可以看出：对于 2 种发育温度下的成虫来说，其 SCP 都同时既有低端峰分布，也有高端峰分布。而且两种发育温度下成虫 SCP 存在极显著差异($F = 13.215$, $df = 1$, $P < 0.01$)。饲养在 18℃(图 3：A)下成虫的 SCP 要高，主要集中在 -8℃ ~ -6℃范围内；饲养在 25℃(图 3：B)下成虫 SCP 要低，主要集中在 -10℃ ~ -9℃范围内。而且饲养在 25℃下成虫 SCP 的最小值要低于 18℃下的。将成虫体型大小与 SCP 进行线性回归分析(图 4)表明其体型大小与过冷却能力呈现负相关关系，即饲养在 18℃下成虫体型较大其 SCP 较高，饲养在 25℃下成虫体型较小其 SCP 偏低，这与图 3 结果一致。



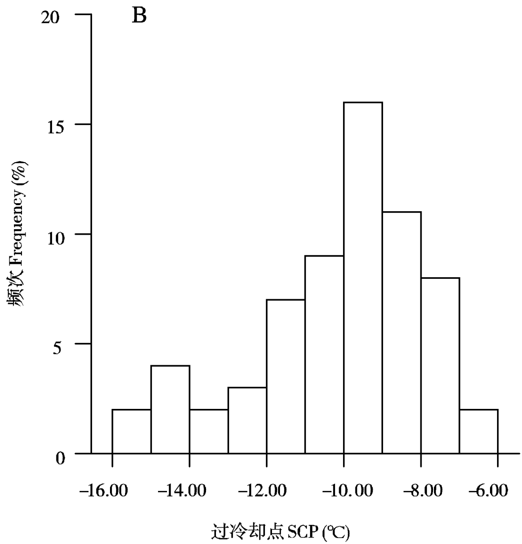


图 3　饲养在 18℃(A)和 25℃(B)下异色瓢虫成虫过冷却点的频次分布

Fig. 3　Supercooling point (SCP) frequency distribution of adults in *Harmonia axyridis* from both rearing temperature 18℃ (A) and 25℃ (B)

2.3　异色瓢虫成虫恒定低温及变温处理

由图 5 可以看出 2 种发育温度下的成虫不管是经过恒定低温还是变温处理其存活率均随着暴露时间的延长而降低，尤其是恒定低温处理后成虫存活率下降更为剧烈。经恒定低温及变温处理 3 周后，饲养在 18℃下成虫存活率分别为 57.6% 和72.2%，而饲养在 25℃ 下成虫存活率分别为 44.0% 和 58.3%。此外，恒定低温与变温这两种处理方式对成虫存活率也存在明显影响。异色瓢虫成虫暴露在变温下比一直暴露在恒定低温下，存活率明显提高。低温暴露 2 周后，CLT18℃ 与 CLT25℃ 组成虫存活率分别为 72.8% 和 65.4%，而 FTR18℃ 与 FTR25℃ 组成虫存活率分别提高至 83.3% 和 73.9%；低温暴露 4 周后，CLT18℃ 与 CLT25℃ 组

成虫存活率分别下降至 16.7% 和 18.3%；而 FTR18℃ 与 FTR25℃ 组成虫存活率仍然保持在 47.1%和36.1%。经过相同时间低温暴露后成虫存活率按下列顺序降低：FTR18℃ > FTR25℃ > CLT18℃ > CLT25℃。

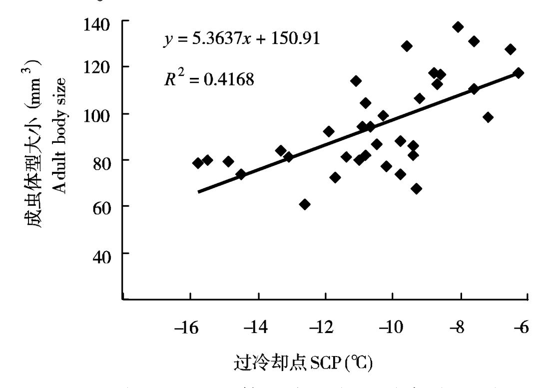


图 4　异色瓢虫成虫体型大小与过冷却点的关系

Fig. 4　Relationship between adult body size (expressed as volume) and SCP of *Harmonia axyridis*

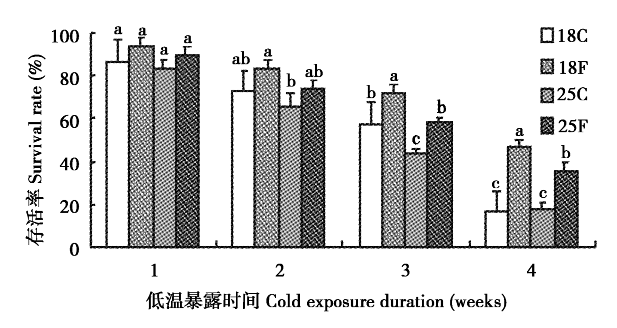


图 5　异色瓢虫成虫经历恒定低温及变温处理后的存活率

Fig. 5　Survival rate of adults in *Harmonia axyridis* under two different types of cold-exposure (CTL and FTR)

图中各数据均为平均值 ± 标准误；同一时间不同柱顶标记不同小写字母表示其在 0.05 水平下 One-way ANOVA，Duncan 氏多重比较存在显著差异。The data in the figure are mean ± *SE*. The different letters on the top of different columns at the same time mean significant difference at the 0.05 level detected by One-Way ANOVA/Duncan's multiple range test.

3　讨论

3.1　体型和脂肪含量与耐寒性

昆虫体内脂肪含量与虫体干重呈正相关关系（Strohm, 2000; Rivero and West, 2002），而且饲养在较低温度下的昆虫体内脂肪含量高，这与本研究结果一致。昆虫个体大小能够影响其过冷却点，这可能是因为随着体型的增加体内会形成较大的冰晶使过冷却能力降低（Lee and Costanzo, 1998）。在许多昆虫中，过冷却能力与体型（David and Vannier, 1996）及脂肪含量（Lombardero *et al.*, 2000）呈负相关关系，本研究结果也明确了这种关系，较低发育温度（18℃）下的成虫体型比 25℃下的大，体内脂肪含量高，但是其过冷却能力却降低。低温暴露期间异色瓢虫成虫处于冷昏迷状态无法取食不能进行能量补充，尤其是脂肪，所以预先的能量贮存及代谢过程中能量节省对其存活是非常重要的。低温环境下昆虫新陈代谢速率降低，能量消耗减少（Karan and David, 2000），主要依靠体内贮存的脂肪进行最基本的新陈代谢来维持生存（Lavy *et al.*, 1997）。异色瓢虫成虫体重随着低温暴露时间的延长而下降，主要是由于体内贮存脂肪的减少。低温暴露过程中导致的死亡可能是由于冷伤害或能量贮存的消耗。这样体型较大的成虫体内贮存的脂肪多，可能对低温下的存活是有利的。异色瓢虫成虫经变温处理 18F（较低的冷伤害水平 + 较高的脂肪含量）其存活率高于 25F（较低的冷伤害水平 + 较低的脂肪含量）。因此当冷伤害水平较低时，此时导致死亡的原因低温是次要的，饥饿的影响才是主要的。饲养在 18℃下的成虫体型大，脂肪含量较高，因此其低温存活时间长。经恒定低温处理后 18C（较高的冷伤害水平 + 较高的脂肪含量）其存活率仅稍高于 25C（较高的冷伤害水平 + 较低的脂肪含量），所以当冷伤害积累到一定程度时，此时饥饿对存活的影响是次要的，冷伤害就成为主要原因。由此可见低温暴露过程中下脂肪贮存对异色瓢虫成虫的存活是非常重要的，但是冷伤害是影响存活的基本因素。

3.2　变温对昆虫耐寒性的影响

本研究表明异色瓢虫成虫暴露在变温下比持续暴露在恒定低温下存活率明显提高（图 5）。无翅红蝽 *Pyrrhocoris apterus* 成虫暴露在变温（-5℃ 22 h/20℃ 2 h）下 11 d 比持续暴露在恒定低温（-5℃）下存活率提高了 50%，存活时间延了 7 d（Koštál *et al.*, 2007）。在家蝇 *Musca domestica*、铜绿蝇 *Lucilia cuprina*、丝光绿蝇 *Lucilia sericata* 蛹（Leopold *et al.*, 1998），黑粉虫 *Alphitobius diaperinus* 成虫（Renault *et al.*, 2004）及蚜茧蜂 *Aphidius colemani* 寄生期间（Colinet *et al.*, 2006）也发现了这一相同现象。此外，对越冬、冷驯化和非滞育条件下的昆虫也进行了这一研究，结果表明变温能够提高昆虫耐寒性这种积极的效应是一种较普遍的现象，并不局限在某一特殊种类的昆虫、某一昆虫的特定发育阶段或者是否经过冷驯化（Koštál *et al.*, 2007）。自然界中昆虫经历的是一个循环的波动温度，因此检验昆虫在变温下的耐寒性有着重要的意义（Bale, 2002）。

Gagne 和 Coderre (1996)研究表明：在 4℃和 8℃下贮存瓢虫 *Coleomegilla maculata* 幼虫后能继续取食发育，低温贮存 2 周后存活较高，而 3 周后其存活率快速下降。变温能够提高存活率这种积极效应可以应用于昆虫长期贮存。自然界中，秋季和春季温度出现大幅度变化和波动是很普遍的，因此昆虫在变温下的这种恢复能力有着重要的生态学意义。

变温对昆虫低温存活及其他方面的适合度均有积极的影响，目前这种潜在生理机制的研究还较少。低温诱导昆虫体内产生胁迫蛋白系统(如热激蛋白)，但其只有在高温下才可能启动进行修复(Korsloot *et al.*, 2004)。Koštál 等(2007)研究发现无翅红蝽 *P. apterus* 和黑粉虫 *A. diaperinus* 持续暴露在恒定低温下使金属离子(Mg^{2+}, Na^{+}, K^{+})调节失衡，高温间断可以使初级离子泵系统跨膜重建离子梯度。昆虫遭受低温胁迫时导致体内新陈代谢紊乱，当返回高温时使一些在低温下被阻断的生理过程继续进行，这样昆虫在低温下遭受的冷伤害就可能得以修复(Rojas and Leopold, 1996; Leopold *et al.*, 1998)。昆虫暴露在变温下体内发生的生理生化反应是复杂的，因此昆虫在变温下能够增强其耐寒性的潜在机制尚需进一步研究。

参 考 文 献 (References)

Angilletta MJ, Dunham AE, 2003. The temperature-size rule in ectotherms: simple evolutionary explanations may not be general. *Am. Nat.*, 162: 332-342.

Arnett AE, Gotelli NJ, 2003. Bergmann's rule in larval ant lions: testing the starvation resistance hypothesis. *Ecol. Entomol.*, 28: 645-650.

Atkinson WD, 1979. A comparison of the reproductive strategies of domestic species of *Drosophila*. *J. Anim. Ecol.*, 48: 53-64.

Bale JS, 2002. Insects and low temperatures: from molecular biology to distributions and abundance. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 357: 849-862.

Chippindale AK, Chu TJF, Rose MR, 1996. Complex trade-offs and the evolution of starvation resistance in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 50: 753-766.

Colinet H, Boivin G, Hance T, 2007a. Manipulation of parasitoid size using temperature-size rule: fitness consequences. *Oecologia*, 152: 425-433.

Colinet H, Renault D, Hance T, Vernon P, 2006. The impact of fluctuating thermal regimes on the survival of a cold-exposed parasitic wasp, *Aphidius colemani*. *Physiological Entomology*, 31: 234-240.

Colinet H, Vernon P, Hance T, 2007b. Does thermal-related plasticity in size and fat reserves influence supercooling abilities and cold-tolerance in *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiinae) mummies? *Journal of Thermal Biology*, 32: 374-382.

David JF, Vannier G, 1996. Changes in supercooling with body size, sex and season in the long-lived millipede *Polyzonium germanicum* (Diplopoda: Polyzoniidae). *J. Zool.*, 240: 599-608.

Gagne I, Coderre D, 1996. Cold storage of *Colemegilla maculata lengi* (Coccinellidae) larvae. Aphidophaga 6, Gembloux.

Harshman LG, Hoffmann AA, Clark AG, 1999. Selection for starvation resistance in *Drosophila melanogaster*: physiological correlates, enzyme activities and multiple stress responses. *J. Evol. Biol.*, 12: 370-379.

Hoffmann AA, Harshman LG, 1999. Desiccation and starvation resistance in *Drosophila*: patterns of variation at the species, population and intrapopulation levels. *Heredity*, 83: 637-643.

Karan D, David JR, 2000. Cold tolerance in *Drosophila*: adaptive variations revealed by the analysis of starvation survival reaction norms. *J. Therm. Biol.*, 25: 345-351.

Koch RL, 2003. The multicolored Asian lady beetle, *Harmonia axyridis*: a review of its biology, uses in biological control, and non-target impacts. *Journal of Insect Science*, 3: 1-16.

Korsloot A, van Gestel CAM, van Straalen NM, 2004. Environmental Stress and Cellular Response in Arthropods. CRC Press, Boca Raton, Florida. 19-58.

Koštál V, Renault D, Mehrabianova A, Bastl J, 2007. Insect cold tolerance and repair of chill-injury at fluctuating thermal regimes: role of ion homeostasis. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 147: 231-238.

Koštál V, Yanagimoto M, Bastl J, 2006. Chilling-injury and disturbance of ion homeostasis in the coxal muscle of the tropical cockroach (*Nauphoeta cinerea*). *Comp. Biochem. Physiol. B*, 143: 171-179.

Lalouette L, Koštál V, Colinet H, Gagneul D, Renault D, 2007. Cold exposure and associated metabolic changes in adult tropical beetles exposed to fluctuating thermal regimes. *FEBS Journal*, 274: 1759-1767.

Lavy D, Nedvěd O, Verhoef HA, 1997. Effects of starvation on body composition and cold tolerance in collembolan *Orchesella cincta* and the isopod *Porcellio scaber*. *J. Insect Physiol.*, 43: 973-978.

Lee RE, Costanzo JP, 1998. Biological ice nucleation and ice distribution in cold-hardy ectothermic animals. *Annu. Rev. Physiol.*, 60: 55-72.

Leopold RA, Rojas RR, Atkinson PW, 1998. Post pupariation cold storage of three species of flies: increasing chilling tolerance by acclimation and recurrent recovery periods. *Cryobiology*, 36: 213-224.

Lombardero MJ, Ayres MP, Ayres BD, Reeve JD, 2000. Cold tolerance of four species of bark beetle (Coleoptera: Scolytidae) in North America. *Environ. Entomol.*, 29: 421-432.

Nedvěd O, Lavy D, Verhoef HA, 1998. Modelling the time-temperature relationship in cold injury and effect of high temperature interruptions on survival in a chill-sensitive collembolan. *Functional Ecology*, 12: 816-824.

Renault D, Hance T, Vannier G, Vernon P, 2003. Is body size an

influential parameter in determining the duration of survival at low temperatures in *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae)? *J. Zool.*, 259: 381 – 388.

Renault D, Nedvěd O, Hervant F, Vernon P, 2004. The importance of fluctuating thermal regimes for repairing chill injuries in the tropical beetle *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) during exposure to low temperature. *Physiol. Entomol.*, 29: 139 – 145.

Renault D, Salin C, Vannier G, Vernon P, 2002. Survival at low temperatures in insects: what is the ecological significance of the supercooling point? *Cryo-Lett.*, 23: 217 – 228.

Rivero A, West SA, 2002. The physiological costs of being small in a parasitic wasp. *Evol. Ecol. Res.*, 4: 407 – 420.

Rojas RR, Leopold RA, 1996. Chilling injury in the housefly: evidence for the role of oxidative stress between pupariation and emergence. *Cryobiology*, 33: 447 – 458.

Sinclair BJ, Vernon P, Klok CJ, Chown SL, 2003. Insects at low temperatures: an ecological perspective. *Trends. Ecol. Evol.*, 18: 257 – 262.

Strohm E, 2000. Factors affecting body size and fat content in a digger wasp. *Oecologia*, 123: 184 – 191.

Wang S, Zhang RZ, Zhang F, 2007. Research progress on biology and ecology of *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 18(9): 2117 – 2126. [王甦，张润志，张帆，2007. 异色瓢虫生物生态学研究进展. 应用生态学报，18(9): 2117 – 2126]

Wang XY, Shen ZR, 2002. Progress of applied research on multicolored Asian ladybird beetle. *Entomological Knowledge*, 39(4): 255 – 261. [王小艺，沈佐锐，2002. 异色瓢虫的应用研究概况. 昆虫知识，39(4): 255 – 261]

Zhao J, Yu LY, Li M, Zheng FQ, Zhang F, Xu YY, 2008. Seasonal variation in cold tolerance of the multicolored ladybeetle, *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) adults. *Acta Entomologica Sinica*, 51(12): 1271 – 1278. [赵静，于令媛，李敏，郑方强，张帆，许永玉，2008. 异色瓢虫成虫耐寒能力的季节性变化. 昆虫学报，51(12): 1271 – 1278]

（责任编辑：袁德成）